云 南 植 物 研 究 2008, 30 (2): 221～226
Acta Botanica Yunnanica DOI: 10.3724/SP. J. 1143. 2008. 07120

航天诱导凤仙花 SP_4 代三种不同花色突变系比较*

杨 军[1,2], 李劲涛[1], 汤泽生[2], 谭 兴[1], 张秀丽[1]
(1 西华师范大学生命科学学院, 四川 南充 637002; 2 西华师范大学珍稀动植物研究所, 四川 南充 637002)

摘要: 以航天诱变凤仙花院 3 株系 SP_4 代中的三种不同花色 (粉花、红花、紫花) 突变系为材料, 对其雄配子体染色体数目、排列方式和花粉活力进行比较分析, 并观察了四分孢子时期的分裂情况。将观察结果同 SP_1、SP_2 和 SP_3 的观察结果进行跟踪比较。结果发现 SP_4 代粉花和红花突变系的小孢子染色体数目趋向正常。紫花突变系花粉染色体数目正常比例仅为 2.88%, 平均为 10.46 条, 并且紫色花突变系出现多分孢子、畸形花粉和花粉染色体排列不规则现象。TTC 染色统计分析发现, 紫花突变系花粉活力较低, 而粉花及红花突变系的花粉活力较高。研究结果表明红花和粉花突变系已经趋于稳定, 但紫花突变系远未达到稳定。本研究为凤仙花新品种 (系) 的选育提供了参考。

关键词: 凤仙花; 突变系; 花粉活力; 染色体数目; 四分孢子
中图分类号: Q 945 **文献标识码**: A **文章编号**: 0253-2700 (2008) 02-221-06

Comparison on Three Mutant Lines with Different Floral Color in SP_4 Generation *Impatiens balsamina* (Balsaminaceae) Induced by Spaceflight

YANG Jun[1,2], LI Jin-Tao[1], TANG Ze-Sheng[2], TAN Xing[1], ZHANG Xiu-Li[1]
(1 *College of Life Sciences*, *China West Normal University*, Nanchong 637002, China;
2 *Institute of Rare Animals and Plants*, *China West Normal University*, Nanchong 637002, China)

Abstract: Three mutant lines with pink, red and purple flowers were cultivated from the descendants of *Impatiens balsamina* "Yuan 3" induced by spaceflight. The number and arrangement of chromosomes in their male gametes, their pollen activities, as well as cell division during male gametogenesis were investigated. The results were analyzed comparatively with previous reports in SP_1, SP_2 and SP_3 generations. It was found that chromosome numbers in mutant lines with pink or red flower were close to the normal, while the rate of pollens with normal chromosome number in the mutant line with purple flower was recorded as low as 2.88%, and the average number was 10.46. Furthermore, paraspore, malformed pollen and irregular arrangement of chromosomes in pollens were observed in the line with purple flower. Statistical analysis via TTC staining showed that the activities of pollens in the mutant line with purple flower were very low. However, the other two lines showed obvious high pollen activities. The results suggested that the lines with red or pink flower trend to be stable, but the line with purple flower was far from stableness.

Key words: *Impatiens balsamina*; Mutant line; Pollen fertility; Chromosome numbers; Tetraspore

凤仙花 (*Impatiens balsamina*) 系凤仙花科凤仙花属, 为一年生药用植物与观赏植物, 在园林景观中应用广泛, 一直受到人们的重视 (汤泽生等, 2005a)。目前研究主要通过改变环境、光周期

---

* 基金项目: 四川省科技厅应用基础 (JY029-055-2) 和四川省重点学科建设项目 (SZD0420)
收稿日期: 2007-06-12, 2007-07-30 接受发表

作者简介: 杨军 (1973-) 男, 博士, 副研究员, 主要从事航天育种与植物生物技术研究。E-mail: yangjunlz@tom.com

诱导，或不同紫外线强度的照射处理，使凤仙花的形态改变，并对这种变化机制进行探讨（Pouteau 等，1998；Tooke and Battey，2000；Dixon 等，2001；Wettberg 等，2005）。随着空间科学的进步，利用卫星搭载诱发植物发生变异成为植物育种的新手段之一，并在一些主要的粮食作物、经济作物、蔬菜和园艺植物中取得了一系列成果（刘继红等，2003；郭光荣等，2004）。凤仙花的染色体数目为 $2n = 2x = 14$，汤泽生等在经“神舟 4 号”卫星搭载凤仙花的 SP_1 代中发现的一个 2003 - 3（汤泽生命名为院 3）突变株，其小孢子母细胞减数分裂后的小孢子内，出现很大程度的异常，在院 3 的 SP_2、SP_3 后代中，其花粉精核的染色体数目变化范围不断缩小，并有趋于稳定的趋势（汤泽生等，2005b）。据蒋兴村等（1995）报道，与常规育种相比，航天育种的优势之一就是育种周期短，一般在 SP_4 代后可以稳定。凤仙花植株经单株收种，按株系播种，在凤仙花院 3 SP_4 代中分化出三个不同花色变异的新品系，从表型看各品系趋于一致，但是否 SP_4 代的凤仙花就已经稳定呢？我们对三个不同花色突变系进行了比较分析，以期为凤仙花新品种（系）育种筛选提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以经“神舟 4 号”搭载的凤仙花（*Impatiens balsamina*）种子 SP_1 代中院 3 突变株的 SP_4 代的三个突变系为材料，三个突变系表型为分别开红色花，粉色花和紫色花。以未经搭载的凤仙花植株为对照。

1.2 方法

2006 年 5 月分别对三突变系在花期取花药，作如下观察分析。

（1）花粉活力的测定：采用 TTC（2，3，5-氯化三苯基四氮唑）法，每株各制五个片子，每张片子取 3 个视野观察统计。具有活力的花粉呼吸作用较强，可将无色的 TTC 还原成红色的 TTF（三苯甲臢）而使其本身着红色，无活力的花粉颜色变化不明显（欧阳志勤等，2006）。我们以着红色的为高活力花粉，浅红色的为弱活力花粉，无色的为无活力花粉为标准进行统计，并计算百分比。用 SPSS13.0 软件对不同突变系花粉活力之间的差异进行显著性分析。

（2）四分孢子及花粉染色体观察：用改良苯酚品红染色、压片观察染色体排列分布情况，并统计染色体数目，典型的结果用 Moitic BA300 系统照相。

2 结果

2.1 花粉活力检测

将 SP_4 代三个不同突变系成熟花粉经 TTC 染色后统计花粉着色情况，结果发现紫花突变系花粉活力较低，高活力花粉的比例仅为 6.6%（表 1）。

2.1.1 高活性花粉频率统计分析 用 SPSS13.0 软件对 3 种突变系具高活性花粉的频率进行统计分析，发现高活性花粉频率的平均值大小顺序是红花突变系 > 粉花突变系 > 紫花突变系。3 个不同突变系高活性花粉频率的标准误大小是紫花突变系 > 粉花突变系 > 红花突变系，说明紫花突变系花粉活性变化范围大，而粉花突变系与红花突变系花粉的活性变化范围较小。

对高活性花粉的频率进行方差齐性检验分析，显示齐性检验结果 sig. = 0.007 < 0.05，说明方差不具有齐性。用 Tamhane 方法对三类植株进行多元性比较分析（表 2）。

分析结果显示，红花突变系与粉花突变系之间显著值 $P = 0.054 > 0.05$，说明二者之间高活性花粉出现的频率差异性不显著。将紫花突变系分别与粉色花突变系和红花突变系进行比较，结果其显著值均为 $P = 0.000 < 0.001$，说明紫花突变系与二者之间差异极显著。

表 1 花粉活力统计

Table 1 Statistical analysis of pollen activity

编号 No.	红色花 Red flower				粉色花 Pink flower				紫色花 Purple flower			
	花粉数 Number	++	+	-	花粉数 Number	++	+	-	花粉数 Number	++	+	-
总数 Total	791	550	98	143	569	323	111	135	609	40	506	63
频率 Rate (%)		69.62	12.39	18.08		56.77	19.51	41.80		6.6	83.09	10.34

注：++：高活力花粉（红色）；+：弱活力花粉（浅红色）；-：无活力花粉（无色）

Note：++：high pollen activity (red)；+：low pollen activity (pink)；-：without pollen activity (purple)

表 2　多元性比较检验

Table 2　Post hoc tests multiple comparisons

	(I) 植株	(J) 植株	离均差 Mean Difference (I-J)	标准误 Std . Error	相伴概率 Sig .	95%置信区间 95% Confidence interval 下限 Lower bound	 上限 Upper bound
Tamhane	红色花	粉色花	.11395816	.03806649	.054	-.0017904	.2297067
		紫色花	.60765214*	.04061317	.000	.4936386	.7216657
	粉色花	红色花	-.11395816	.03806649	.054	-.2297067	.0017904
		紫色花	.49369398*	.05247497	.000	.3524919	.6348961
	紫色花	红色花	-.60765214*	.04061317	.000	-.7216657	-.4936386
		粉色花	-.49369398*	.05247497	.000	-.6348961	-.3524919

* The mean difference is significant at the .05 level

2.2　染色体

2.2.1　院 3 突变株后代小孢子染色体变化　凤仙花染色体数目为 $2n = 2x = 14$，对三个不同花色凤仙花突变系花粉染色体数目进行观察统计，结果发现粉花突变系和红花突变系的小孢子内的染色体数目正常的比例分别是 73.15%及 75.76%，接近于对照组的 95.88%。但紫花突变系的小孢子染色体数目正常的仅占 2.88%，绝大多数小孢子的染色体多于正常数目，平均每个小孢子染色体条数为 10.46 条（表 3）。

表 3　凤仙花院 3 突变株 SP_4 代小孢子染色体数目的变化

Table 3　Variation of chromosome number in microspores of SP_4 plants from Yuan 3 mutant plant

材料 Material		染色体数目 No . of chromosomes 4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	合计 Total
粉色突变株	细胞数 No.of cell		10	16	79	3							108
	频率 Rate (%)		9.26	14.81	73.15	2.78							
SP_4 红色突变株	细胞数 No.of cell		3	21	100	8							132
	频率 Rate (%)		2.27	15.91	75.76	6.06							
紫色突变株	细胞数 No.of cell				3	5	16	32	30	3	13	2	104
	频率 Rate (%)				2.88	4.81	15.38	30.77	28.85	2.88	12.50	1.92	
CK	细胞数 No.of cell			6	163	1							170
	频率 Rate (%)			3.53	95.88	0.59							

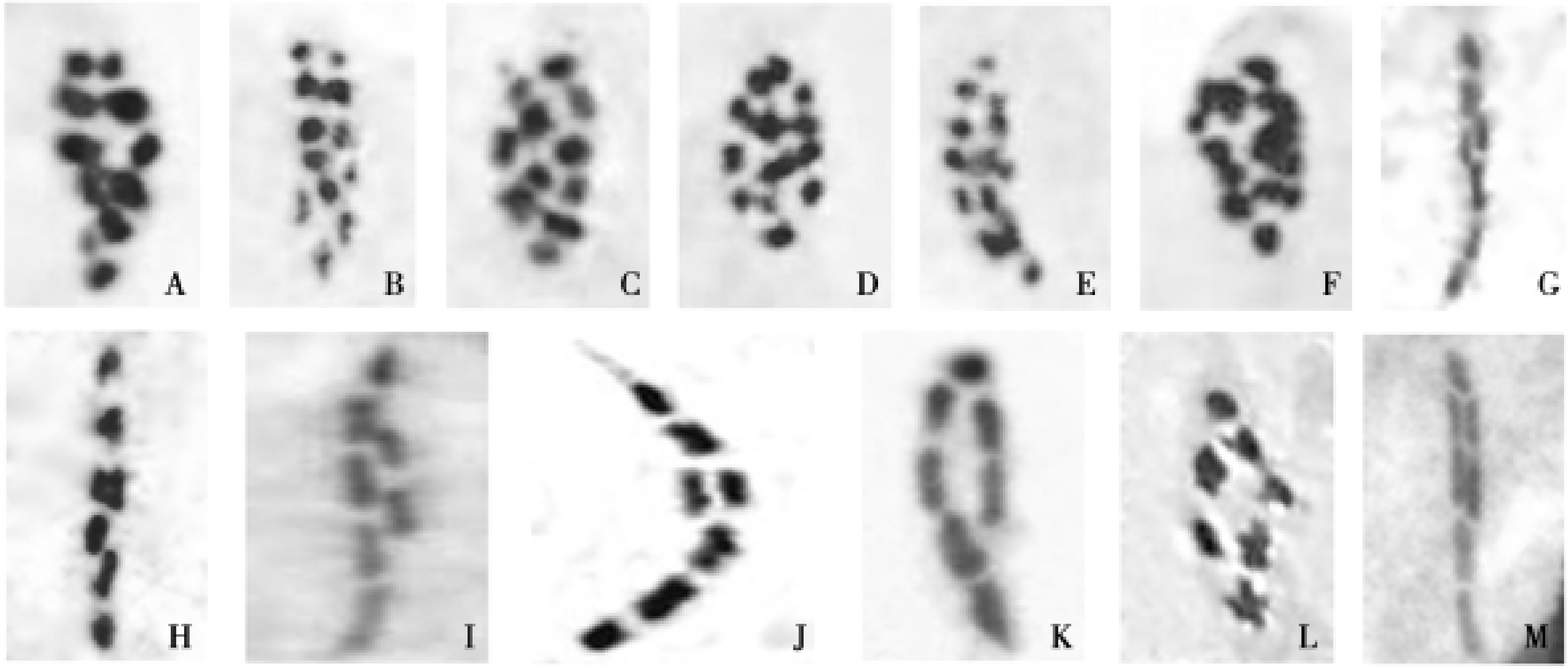

图 1　三个突变株系花粉中的染色体

Fig . 1　Chromosomes in pollens of three mutant lines

A～F：紫色花突变系染色体；G～I：红色花突变株系染色体；J～L：粉色花突变株系染色体；M：对照

A-F：Chromosomes in mutant line with purple flower；G-I：Chromosomes in mutant line with red flower；

J-L：Chromosomes in mutant line with pink flower；M：Chromosomes in control plant

2.2.2 染色体的排列状态 正常凤仙花染色体为短棒状（图1：M），数目为7条。紫花突变系花粉内染色体的数目明显比正常植株的多，大小不一，很多染色体间有相连，且总的来说排列不规则（图1：A～F）。而粉花突变系与红色花突变系同正常植株相似，花粉内的染色体多是分散的线状排列或两排，大小较均匀，排列较规则(图1：G～M)。

2.3 四分孢子时期分裂情况

对SP_4代三个突变系在四分孢子时期的分裂状况观察发现，紫花突变系出现高频率的多分孢子现象，数量变化很大；有的分裂均匀（图2：A、B），有的分裂不均、大小不一（图2：C～F)。而粉花突变系与红花突变系分裂正常（图2：G～J)。

2.4 花粉形态观察

观察SP_4代花粉形态发现，粉花及红花突变系花粉大小较均匀，形态较饱满（图3：A，B)。而紫花突变系花粉粒大小不一，有很多细小的花粉，也出现不少联体花粉和畸形花粉（图3：C～F)。

3 讨论与分析

航天育种是利用空间特殊条件对种子或植物组织的作用，使染色体发生断裂、基因重组而产生性状变异。这种变异虽没有外源基因的插入，但诱变效率高、且产生的变异可遗传（Hahn and Hock，1999)，为作物育种、特别是园林植物育种提供了绝好的手段。汤泽生等（2004）在凤仙花种子经卫星搭载的当代分析，发现有的植株突

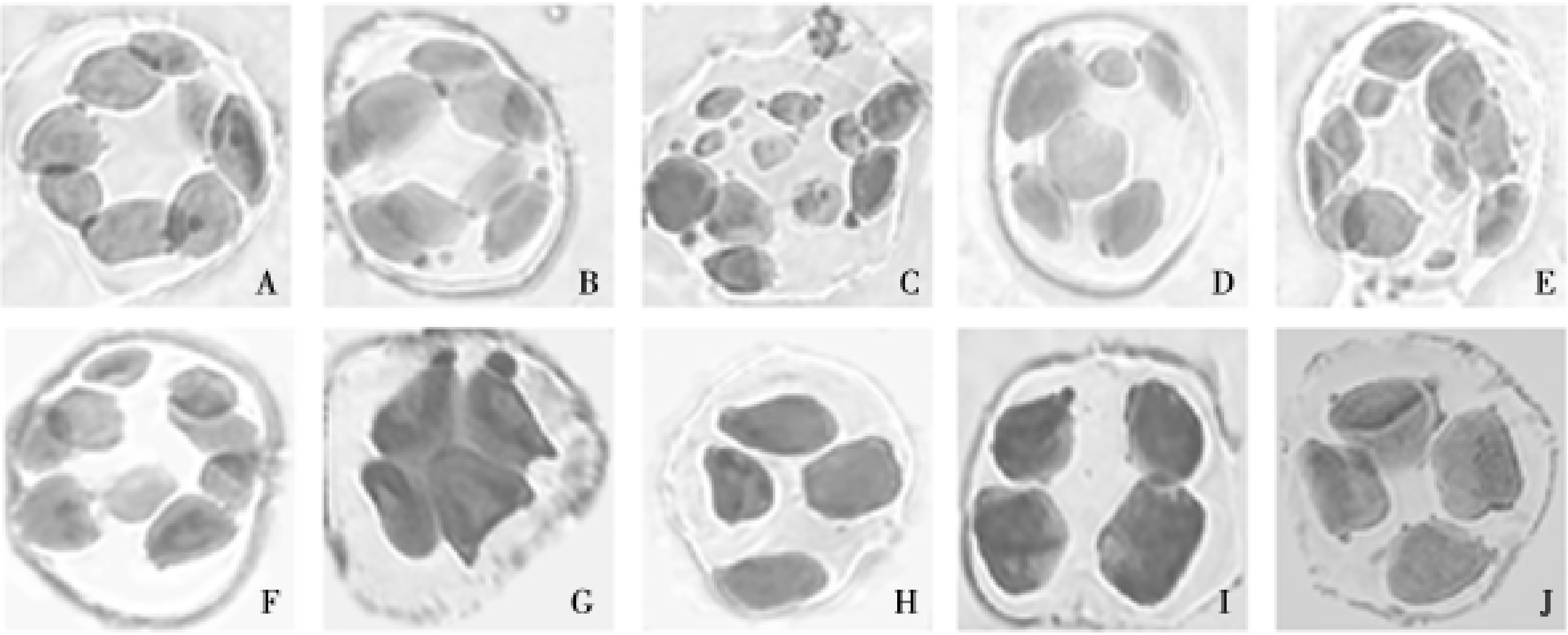

图2 四分孢子时期细胞分裂

Fig.2 Cell division of *I. balsamina* in tetraspore stage

A～F：紫花突变株系的多分孢子；G～H：粉花突变株系的四分孢子；I～J：红花突变株系的四分孢子

A-F: Paraspores in mutant line with purple flower; G-H: Tetraspores in mutant line with pink flower; I-J: Tetraspores in mutant line with red flower

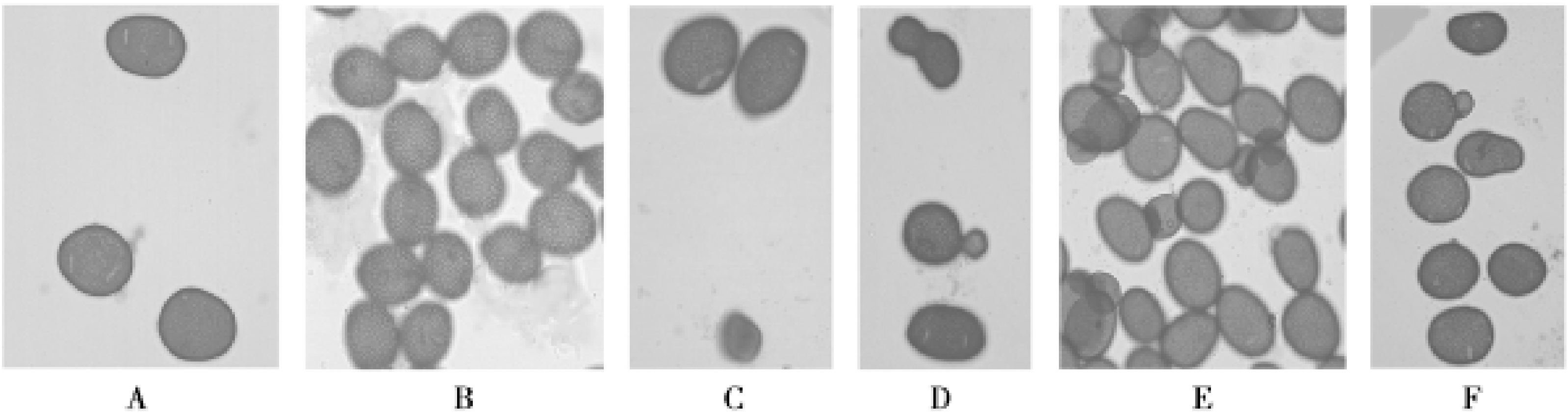

图3 三个不同突变系花粉形态

Fig.3 Shape of pollens in three mutant line plants

A：粉色花突变系花粉；B：红色花突变系花粉；C～F：紫色花突变系花粉

A: Pollens in mutant plant with pink flower; B: Pollens in mutant plant with red flower; C-F: Pollens in mutant plant with purple flower

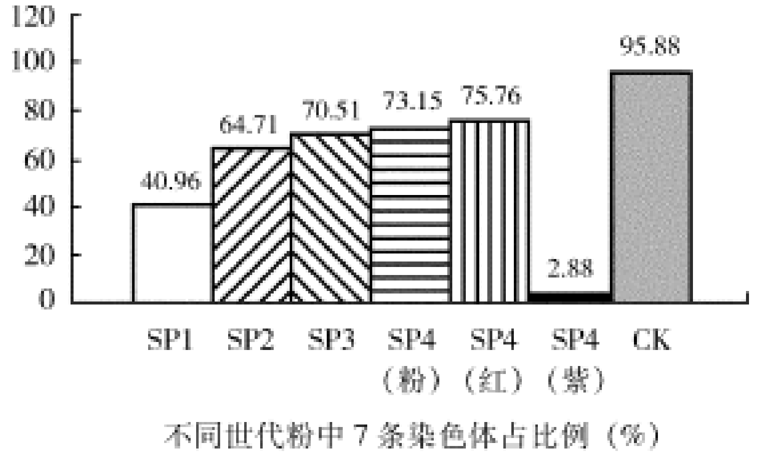

图 4　院 3 突变株不同后代小株系中具正常染色体数目花粉的比例

Fig. 4　Rates of pollens in different generation or lines with mormal chromosome numbers from Yuan 3

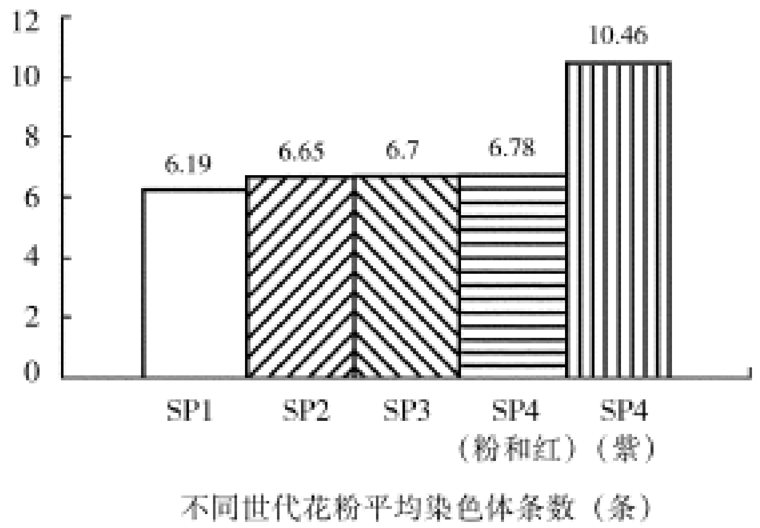

图 5　院 3 突变株后代小孢子平均染色体数目

Fig. 5　Average chromosome number in microspores of different generation or lines from Yuan 3

变比较明显，这为选育凤仙花新品种（系）提供了良好的素材。在对一株染色体行为极端异常的突变株（院 3）进行跟踪观察研究后，发现其 SP$_2$、SP$_3$ 后代中，花粉精核的染色体数目变化范围不断缩小，并有趋于稳定的趋势（汤泽生等，2005b）。在经过单株收种栽培后发现在 SP$_4$ 代中分化出了红花、粉花和紫花群体，且各群体内部趋于一致。

参照以前的报道结果，对 SP$_1$-SP$_4$ 代的结果进行分析，发现具有正常染色体数目花粉的比例随着世代的增加逐渐增加：SP$_1$ 代为 40.96%，SP$_3$ 代达 70.50%，而 SP$_4$ 代的粉花突变系和红色花突变系分别为 73.15%和 75.76%（图 4）。分析院 3 突变株后代小孢子平均染色体数目，SP$_1$-SP$_4$ 代也呈增加的趋势，并越来越接近正常的 7 条染色体数目（图 5）。说明粉花突变系与红花突变系已趋于稳定。但是紫花突变系具正常染色体数目的花粉比例远低于粉花和红花突变系，更低于对照组材料，甚至不及其亲代院 3。由此可见紫花突变系尚未稳定。与 SP$_1$-SP$_3$ 代及粉花和红花突变系不同的是，紫花突变系花粉平均染色体数目高于正常染色体组，为 10.46（约为 7 条与 14 条的均值）。

不仅如此，紫花突变系还存在多分孢子、花粉畸形及花粉中染色体排列不规则的现象，这与紫花突变系花粉染色体异常的结果是一致的。推测紫花突变系产生这些现象的原因，可能是减数分裂的多极分裂导致多分孢子的形成，而染色体分配不均致使各小孢子中染色体数目不一（汤泽生等，2005a）。紫花突变系花粉染色体排列不规则的原因，应当与染色体数目的增多有关；而紫色花突变系花粉育性低的原因在于，非整倍体的大量出现，导致与发育相关的基因和酶的变化，使细胞分裂和代谢活动受到影响（Matzke 等，1999；刘继红等，2003；郭光荣等，2004；Tel-Zur 等，2005）。

综合几方面的结果可以看出，院 3 的后代 SP$_4$ 代中，红花和粉花突变系已经趋于稳定，但紫花突变系远未达到稳定。李源祥等（2000）在研究空间诱变水稻时，发现 SP$_1$ 代的变异不明显；SP$_2$ 和 SP$_3$ 代出现强烈的分离变异，而 SP$_4$ 代的大部分性状已基本稳定；赵玉锦等（2001）从航天诱变高粱的 SP$_3$ 代中获得一个矮杆早熟突变体，其后代连续两年播种突变体性状稳定；而李金国等（2000）研究空间诱变番茄时，SP$_4$ 代选拔单株系，后代获得稳定纯度高的优良突变品系。比较发现，在这些材料中报道的结果均与我们在凤仙花中所得到的结果有所不同。本文的研究结果为凤仙花的航天诱导新品种（系）的选育提供了参考依据。

〔参考文献〕

蒋兴村等，1995. 农作物空间诱变育种进展及其前景［A］. 航天育种论文集［C］. 北京：中国航王工业总公司第 710 所 中国宇航学会，9—13

Dixon P，Weinig C，Schmitt J，2001. Susceptibility to UV damage in

Impatiens capensis (Balsaminaceae): testing for opportunity costs to shade-avoidance and population differentiation [J]. *Amer J Bot*, **88**: 1401—1408

Guo GR (郭光荣), Cheng LG (程乐根), Guo F (郭峰) *et al*., 2004. Breeding of the nucleus sterile lines of rice by space induction [J]. *Acta Agri Nucl Sin* (核农学报), **18** (4): 269—271

Hahn A, Hock B, 1999. Chromosome mechanics of fungi under space-flight conditions—tetrad analysis of two-factor crosses between spore color mutants of *Sordaria macrospore* [J]. *FASEB J*, **13** (1): S149—S156

Li JG (李金国), Liu M (刘敏), Wang PS (王培生) *et al*., 2000. Effects of space condition on mutation and inheritance of tomato [J]. *Space Medicine* & *Medical Engineering* (航天医学与医学工程), **13** (2): 114—118

Li YX (李源祥), Jiang XC (蒋兴村), Li JG (李金国) *et al*., 2000. Study on rice breeding by space mutation and its character variafion [J]. *Acta Agric Jiangxi* (江西农业学报), **12** (2): 17—23

Liu JH (刘继红), Xu XY (徐小勇), Deng XX (邓秀新), 2003. Variation of protoplast-derived plants and its application to plant breeding [J]. *J Huazhong Agri Univ* (华中农业大学学报), **22** (3): 301—306

Matzke MA, Scheid OM, Matzke AJ, 1999. Rapid structural and epigenetic changes in polyploid and aneuploid genomes [J]. *Bioessays*, **21** (9): 761—767

Ouyang ZQ (欧阳志勤), Su WH (文华), Zhang GF (张光飞), 2006. Studies on character of seed germination of rare plant *Dipteronia dyeriana* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **28** (5): 509—514

Pouteau S, Tooke F, Battey N, 1998. Quantitative control of inflorescence formation in *Impatiens balsamina* [J]. *Plant Physiol*, **118**: 1191—1201

Tang ZS (汤泽生), Yang J (杨军), Zhao Y (赵燕) *et al*., 2004. Traits and meiosis in mutant of *Impations balsamina* induced by space treatment [J]. *Acta Agri Nucl Sin* (核农学报), **18** (4): 289—293

Tang ZS (汤泽生), Yang J (杨军), Liu P (刘平) *et al*., 2005a. Effect of space flight on meiosis of pollen mother cells and its derived pollens in *Impatiens balsamina* [J]. *Acta Agri Nucl Sin* (核农学报), **19** (1): 33—36

Tang ZS (汤泽生), Chen DC (陈德灿), Yang J (杨军) *et al*., 2005b. Variation of microspores in the descendants of *Impatiens baisamina* mutant plant Yuan 3 induced by space flight [J]. *J China West Normal Univ* (西华师范大学学报), **26** (4): 358—363

Tel-Zur N, Abbo S, Mizrahi Y, 2005. Cytogenetics of semi-fertile triploid and aneuploid intergeneric vine cacti hybrids [J]. *Journal of Heredity*, **96** (2): 124—131

Tooke F, Battey NH, 2000. A leaf-derived signal is a quantitative determinant of floral form in *Impatiens* [J]. *The Plant Cell*, **12**: 1837—1847

Wettberg EJ, Schmitt J, 2005. Physiological mechanism of population differentiation in shade-avoidance responses between woodland and clearing genotypes of *Impatiens capensis* [J]. *Amer J Bot*, **92**: 868—874

Zhao YJ (赵玉锦), Zhao Q (赵琦), Bai ZL (白志良) *et al*., 2001. Study on *Sorghum* mutant induced by space flight [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), **18** (1): 81—89